
研究報文

マウス胸腺脂肪化の組織学的検討

瀬戸口美沙子, 宮田 堅司

Histological study of lipogenesis in the thymus of the mouse

Misako Setoguchi and Kenji Miyata

Lipogenesis in the thymus of the mouse was investigated histologically through the postnatal growth. The HE-stained sections of the thymus from neonatal to 8 week-old mice were prepared and observed under LM. Fat cells were not observed in the thymus of neonatal, 3 nor 4 week-old. In the 5 week-old specimens small groups of fat cells were observed in the trabeculae, but not in the capsule. Fat cells tended to increase in the 6 and 8 week-old specimens in their order, and appeared at the capsule in the latter.

Then, total lipid and DNA contained in the thymus were also determined. The quantity of total lipid increased at the period of 5 to 8 week-old after birth, but the DNA contents were not changed for the period of 3 to 8 week-old. These results suggest that mature fat cells appear at the trabeculae until 5 week-old at the latest, and then that fat cell accumulation in the thymus precede the decrease of lymphocytes, that is, age involution, in the thymus of the mouse.

I. はじめに

胸腺は胸郭内で心臓の前上方に位置し, T リンパ球が分化増殖する一次リンパ性器官である。マウスの胸腺は疎性結合組織の被膜に被われた左右二葉からなる。被膜から内部に向かって結合組織性のトラベキュラが侵入し, 実質を多くの小葉にわけている。小葉は比較的未成熟なリンパ球の局在する皮質と, より成熟したリンパ球の局在する髄質により構成されている。このリンパ球領域は T リンパ球の早急な供給を必要とする胎生後期から幼仔期にわたって著しく発達し, 春機発動期前後まで増大するが, その後加齢に伴うリンパ球の減少により萎縮退化する¹⁾。この退縮にともない胸腺内に脂肪細胞が出現し, リンパ球領域が脂肪細胞で置換された様相を呈する。マウスでは, 脂肪細胞が産生するレプチンに対するレセプターには少なくとも 5 種類 (OBR-a ~ OBR-e) のアイソタイプが存在するけれども, OBR-

b のみが細胞内への情報伝達に関与し得るとされている^{2,3)}。前報において, マウス胸腺で OBR-b が発現していること⁴⁾, 胸腺構成細胞の一次培養系をもちいて胸腺構成細胞のうち, リンパ球のみが OBR-b を発現していること⁵⁾を示し, 胸腺中に増殖して行く脂肪細胞がレプチンを介してリンパ球に特異的に作用している可能性を示唆した。

本報では, 出生直後から 8 週齢までのマウスを用いて胸腺組織標本作製し, 加齢に伴い胸腺内に脂肪細胞が出現する時期を検討した。また, 3 週齢から 8 週齢の胸腺の総脂質量の変化を検討した。

II. 方 法

1. 材料

SPF 状態で飼育されていたマウス (BALB/c, ♀) を用いた。出生直後, 3, 4, 5, 6, 8 週齢および妊娠 20 日のマウスの頸椎を脱臼させ, 開腹開胸し胸腺を摘出, 直ちに中性ホルマリン液で浸漬固定した。

2. 組織切片の作製

固定した胸腺をアルコールシリーズで脱水, アセ

トン—エタノール—クロロホルム混液処理した後にパラフィン包埋した。滑走式ミクロトームで 4 μ m 厚の切片を作製した。脱パラフィン、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、脱水、封入した後、顕微鏡観察した。

3. 脂質の抽出

凍結保存した胸腺を秤量した後、クロロホルム—メタノール—水の混液を用いる Bligh and Dyer の方法⁶⁾にしたがって総脂質を抽出した。窒素気流中で溶媒を留去、減圧乾燥後秤量し総脂質量を求めた。

4. DNAの抽出

凍結保存した胸腺を秤量した後細切し、proteinase K による消化、RNase 処理、フェノール抽出法により DNA を抽出した⁷⁾。エタノール沈殿法により精製した後、260nm における吸収より DNA 量を求めた。

Ⅲ. 結 果

1. 胸腺脂肪細胞の組織学的観察

1) 出生直後

胸腺実質内のリンパ球領域は、周縁部の明るい領域および深部のより濃く染色された領域とが区別された。リンパ球領域を被う被膜は明瞭ではなく、周囲の疎性結合組織に連続していた。膠原線維が少なく未成熟な様相を呈するトラベキュラが散在したが、脂肪細胞は認められなかった (図 1a)。

2) 3週齢および4週齢

膠原線維の豊富な被膜やトラベキュラが、3 週齢ですでに形成されていた (図 1b)。トラベキュラ中には血管も認められ、小葉間の境界は明瞭であった。また、4 週齢のリンパ球領域では胚中心が認められた (図 1c)。被膜やトラベキュラに脂肪細胞は観察されなかった。

3) 5週齢, 6週齢, 8週齢

5 週齢で、はじめて胸腺内部のトラベキュラに脂肪細胞の集団が観察された (図 1d)。被膜には脂肪細胞は認められず、内部のトラベキュラに局在していた。6 週齢, 8 週齢と加齢にともなって脂肪細胞が増加する傾向が認められた。8 週齢では被膜内にも脂肪細胞の集団が認められ、これは連続するトラベキュラへ移行していた (図 1e)。

4) 妊娠20日齢

妊娠 20 日齢のマウスでは、皮下や腹腔内に豊富な脂肪組織が認められた。胸腺にも多量の脂肪組織が認められ、リンパ球領域全体が被われていた。リンパ球領域は退縮し、増大した脂肪組織の中に少量のリンパ球の集団が散在していた (図 1f)。

2. 胸腺総脂質量の変化

3, 4, 5 および 8 週齢マウス胸腺 (湿重量 50 ~ 90 mg) の総脂質量を図 2 に示した。3 週齢から 5 週齢では、単位湿重量あたりの総脂質量は一定であったが、8 週齢では増大した。胸腺細胞数の指標として DNA を抽出、定量した結果を図 3 に示した。3 週齢から 8 週齢の期間では、単位重量あたりの DNA 量は一定であった。

Ⅳ. 考 察

マウス胸腺は、胎生 12 日頃に第 3 鰓嚢に由来する上皮性細胞が内方移動することにより原基が出現し、さらに、骨髓由来の細胞が流入することにより形成される¹⁾。胎生後期および出生後春機発動期前後まで増大し、その後、リンパ球数の減少および脂肪細胞の増加が起こる。本報では、胸腺内に脂肪細胞が出現する時期および脂肪細胞の由来を明らかにするために、出生直後から 8 週齢までのマウス胸腺の HE 染色組織標本を作製した。また、脂肪細胞が出現することにより胸腺の脂質含有量が増加することが予測されるので、加齢による胸腺の総脂質量の変化を検討した。

出生直後の胸腺では、被膜およびトラベキュラともに、膠原線維が少なく膠様組織の様相を呈し未成熟であったけれども、3 週齢では膠原線維の豊富で緻密な被膜およびトラベキュラが形成されていた。また、出生直後のマウス胸腺湿重量は数 mg であったけれども、3 週齢では約 50mg であった。このことから、生後 3 週間の期間中に胸腺内部の結合組織成分の産生が進むこと、および、おそらくリンパ球の増殖により細胞数も急激に増加することが明らかとなった。しかし、結合組織構成細胞の 1 員である脂肪細胞は認められなかった。光学顕微鏡の解像度内で、脂肪滴を持った脂肪細胞が胸腺内部に認められたのは生後 5 週齢以降であり、この時期までに脂肪細胞の分化が進んでいることが明らかとなった。

Bligh and Dyer 法⁶⁾ により定量した胸腺組織単位重量あたりの総脂質量は、3 週齢から 5 週齢では変化せず、5 週齢から 8 週齢の間で急激に増大した。一方、胸腺に含有される DNA 量はほとんど変化せず、この期間中には細胞数の急激な変動は起こらないことが示唆された。したがって、5 週齢以降の総脂質量の増大は、細胞数の増加によるものではなく、細胞あたりの脂質含有量が増加することによることが明らかとなった。このことに寄与する細胞は、上述した組織学的な結果より胸腺内に出現する脂肪細胞

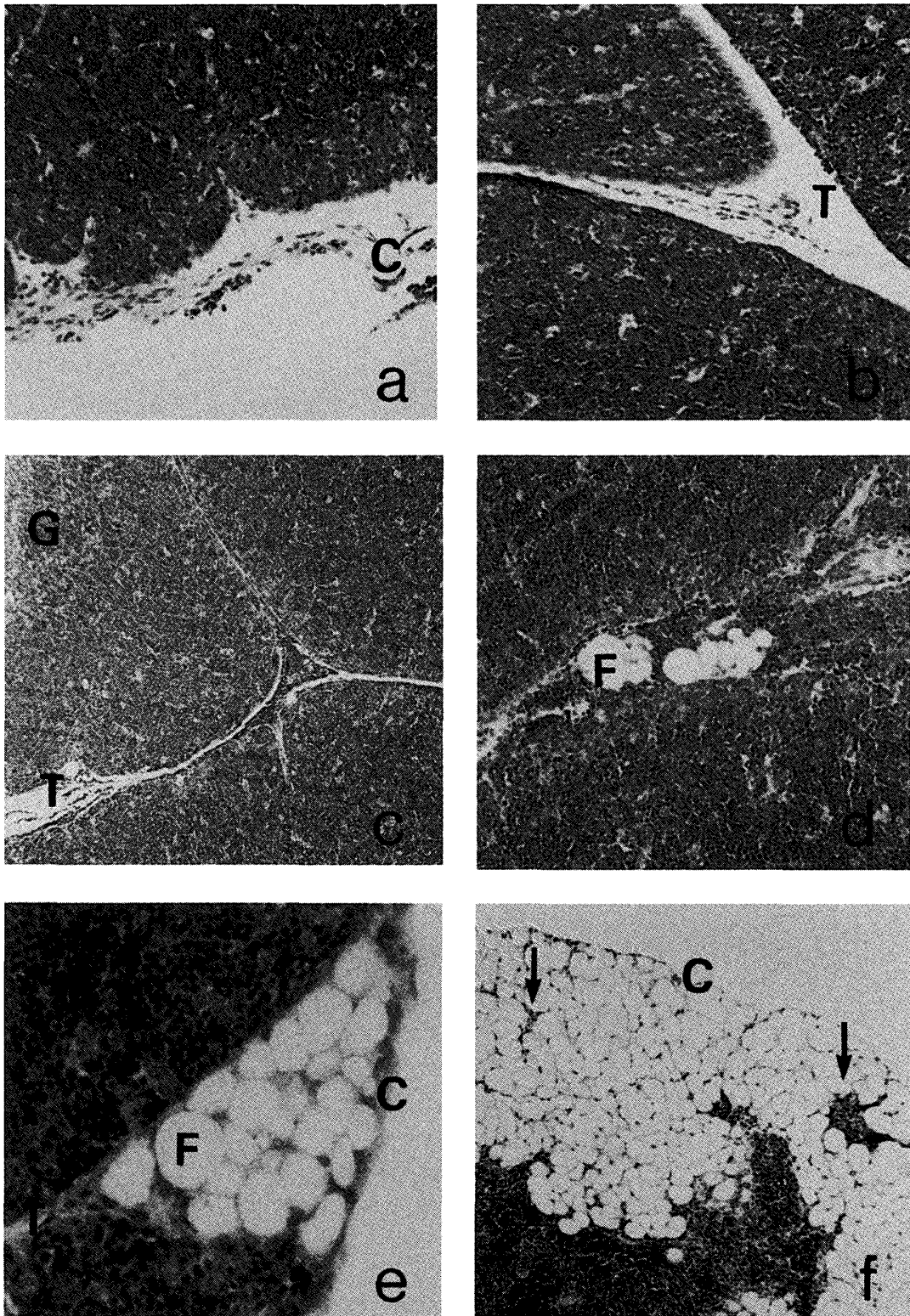


図 1 加齢に伴う胸腺内脂肪細胞の増加

a. 出生直後；被膜 (C) は膠様組織様であり膠原線維が少ない。リンパ球領域は周縁部の細胞が明るく、深遠部の細胞が濃く染色されている。b. 3 週齢；トラベキュラ (T) には明瞭な膠原線維が認められる。脂肪細胞は認められない。c. 4 週齢；トラベキュラ (T) による小葉間の境界は明瞭である。脂肪細胞は認められない。小葉の中心部には胚中心 (G) が認められる。d. 5 週齢；胸腺内に脂肪細胞 (F) が認められた。十数個の脂肪細胞からなる集団が散在する。e. 8 週齢；被膜 (C) 内あるいは被膜直下にも脂肪細胞が認められる。これらはトラベキュラ (T) 中の脂肪細胞 (F) の集団へ移行している。f. 妊娠 20 日齢；被膜 (C) やトラベキュラ中で脂肪細胞が著しく増加している。リンパ球領域は退縮している。少量で残存するリンパ球領域 (→) は、脂肪組織の中へリンパ球が浸潤した様相を呈する。

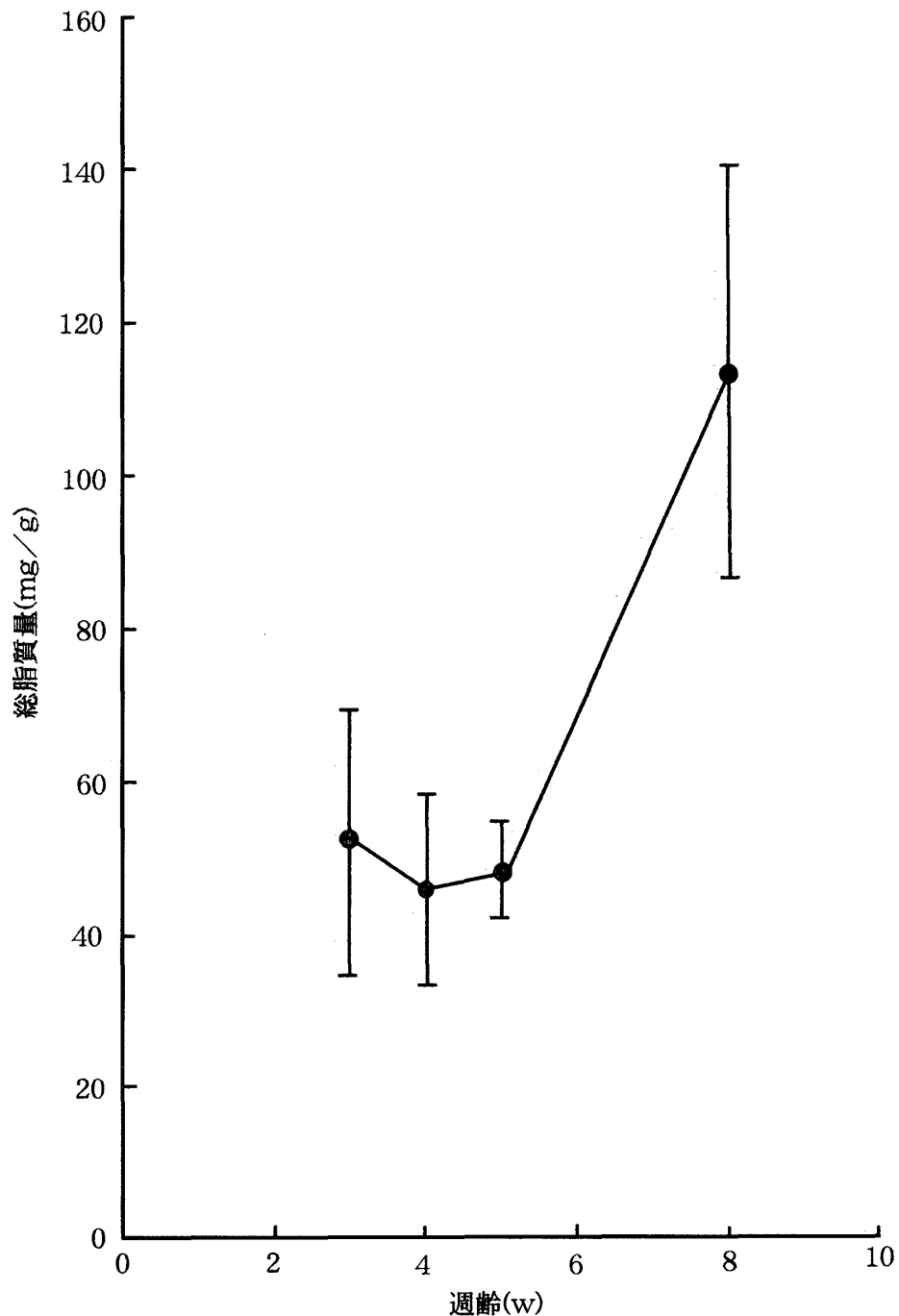


図2 加齢に伴う胸腺総脂質量の変化

各週齢毎に3～5個の試料を測定した。胸腺湿重量1gあたりの総脂質量平均値±標準偏差を示した。

であると考えられた。

加齢に伴う胸腺での脂肪細胞の由来に関しては、脂肪細胞あるいはその前駆細胞が胸腔中の胸腺周囲の結合組織あるいは他の場所から移動してくるメカニズム、あるいは、発生時に既に被膜あるいはトラベキュラ中に脂肪細胞の前駆細胞が存在し、加齢に伴い増殖および分化するメカニズムが考えられる。本報での組織学的な観察では、最初に脂肪細胞が出現する領域は内部のトラベキュラであることから、これらの脂肪細胞が胸腺内の結合組織に由来する可

能性が示唆された。

以上のことより、マウス胸腺の加齢退縮に関しては、リンパ球数の減少に先行して胸腺内部で脂肪細胞が分化増殖してくる考えられる。このことは、リンパ球数の減少が始まる時期は明らかではないけれども、胸腺中の脂肪細胞がリンパ球に作用している可能性を示唆している。

V. 要 約

加齢に伴うマウス胸腺の脂肪化時期を明らかにす

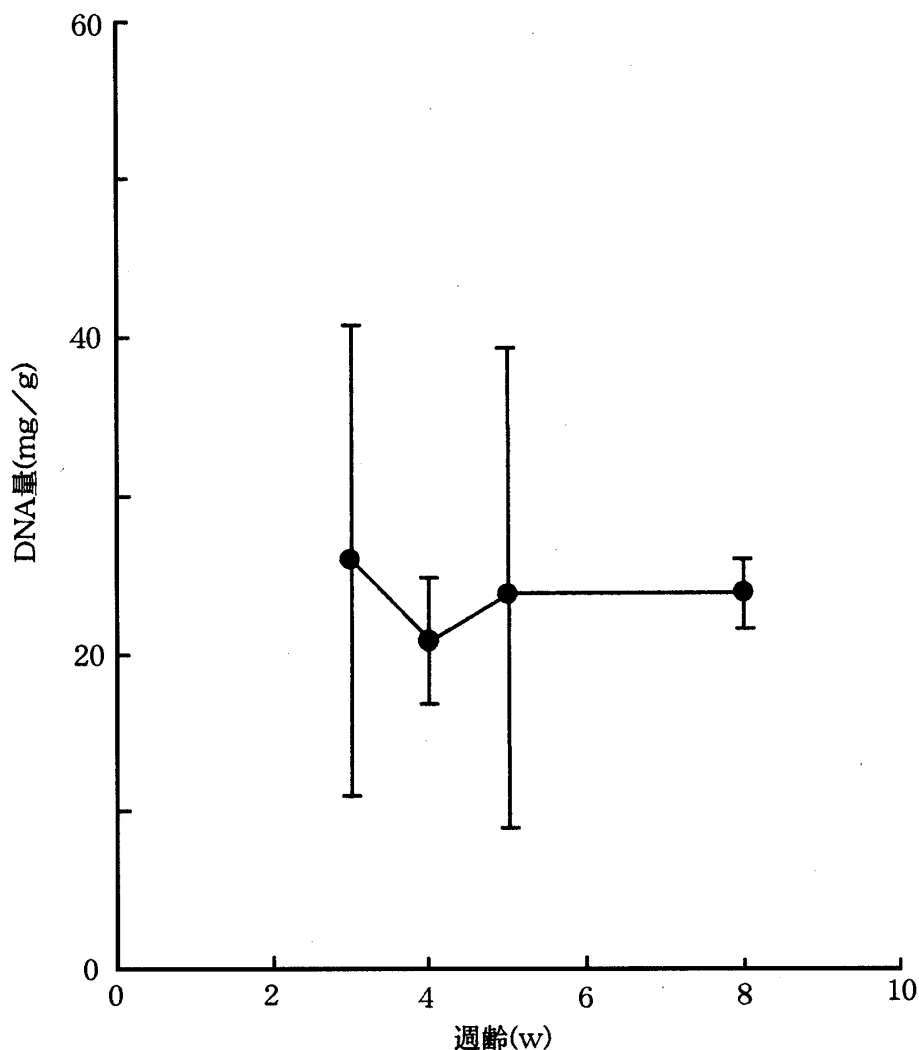


図 3 加齢に伴う胸腺 DNA 量の変化

各週齢毎に 3～5 個の試料を測定した。胸腺湿重量 1g あたりの DNA 量平均値±標準偏差を示した。

るために、週齢の異なるマウス胸腺の組織標本の観察、および胸腺に含有される総脂質量の定量をおこなった。出生直後、3 および 4 週齢の標本では、胸腺内のトラベキュラや被膜に脂肪細胞は観察されなかった。5 週齢標本では、胸腺内部のトラベキュラに単胞性の脂肪細胞が少数集合したものが観察された。以後、6 週齢、8 週齢と加齢に伴い脂肪細胞が増加していた。以上より、マウス胸腺では、遅くとも 5 週齢の胸腺内のトラベキュラに脂肪細胞が存在することが明らかとなった。また、胸腺組織単位湿重量あたりの総脂質量も 5 週齢以降増加し、脂肪細胞出現時期と一致した。

引用文献

- 1) R. Rugh: The mouse, Its Reproduction and Development, Burgess Publishing, 253 (1968)
- 2) J. M. Friedman and J. L. Halaas: *Nature*, 395, 763 (1998)
- 3) G-H. Lee, R. Proenca, J. M. Montez, K. M. Carroll, J. G. Darvishzadeh, J. I. Lee and J. M. Friedman: *Nature*, 379, 632 (1996)
- 4) 井田めぐみ, 草信映子, 鈴木真知子, 酒井奈美, 白井能富子, 永尾命子, 幟川智子, 宮田堅司: 本誌, 1 (1999)
- 5) 坂口恵子, 佐藤紘子, 徳永雅美, 西津景子, 久湊尚子, 松永美沙子, 宮田堅司: 本誌, 55, 23 (2000)
- 6) E. Bligh and J. W. Dyer: *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911 (1959)
- 7) J. Sambrook and D. W. Russel: Molecular Cloning A Laboratory Manual, 3rd ed., COLD SPRING HARBOR LABORATORY PRESS, 6-24 (2000)